

PENGUNAAN SALIVA UNTUK MENDETEKSI KANKER

Herlia Nur Istindiah*, Elza Ibrahim Auerkari**.

*Bagian Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Prof. DR. Moestopo (B).

**Bagian Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia.

Herlia Nur Istindiah, Elza Ibrahim Auerkari: Penggunaan Saliva untuk Mendeteksi Kanker. Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. 2003; 10(Edition Khusus): 279-283

Abstract

Cancer detection medium such as serum & biopsy often make patient uncooperative due to lack of safety, convenience & economic. This condition causes cancer to be detected at late stadium & causes death. This paper discusses the role of saliva as cancer detection medium of choice. Some tumor markers have been identified in saliva such as *c-erbB-2*, CA 15-3, p53 & CA 125. Each corresponds to certain type of cancer. These tumor markers are protein, thus the use of saliva to detect cancer can utilize protein analysis technique such as ELISA. ELISA can be used for early detection & monitoring of the effectiveness of breast cancer treatment by showing the expression of *c-erbB-2* & CA 15-3 in saliva. Saliva has high potential as cancer detection medium & cancer treatment monitor, especially breast cancer. Further various researches are needed for different tumor marker with other protein analysis technique.

Key words: Saliva; cancer detection

Pendahuluan

Kanker merupakan salah satu penyebab kematian tertinggi di Amerika Serikat.¹ Penyebab kematian dapat disebabkan deteksi yang sulit dan pasien datang dengan stadium lanjut dari kanker yang dideritanya. Umumnya pasien kurang kooperatif karena pemeriksaan kanker memerlukan biaya yang mahal, pengambilan spesimen berulang kali dan teknik pengambilan spesimen yang membuat pasien tidak nyaman. Selain itu teknik pengambilan spesimen kanker yang ada memerlukan tenaga kesehatan yang sangat terlatih dan berpengalaman serta

waktu yang banyak.^{1,2} Walaupun ada usaha untuk memberikan diagnosis yang akurat, namun beberapa prosedur seperti *screening* pada kanker payudara dapat menghasilkan false negatif dan positif dengan persentase yang cukup besar, terutama wanita dengan jaringan parenkim payudara yang padat.¹

Saliva sebagai cairan diagnostik dapat digunakan sebagai sarana deteksi pilihan karena memiliki beberapa keunggulan secara diagnostik dan logistik dibandingkan serum. Hal ini karena teknik pengumpulan saliva cukup aman, tanpa penusukan jarum, mudah, sederhana dan dapat diambil berulang-ulang tanpa membuat pasien menderita.^{1,2} Test berbasis

saliva sangat berguna untuk penatalaksanaan awal dari pasien kanker.

Saliva dapat digunakan mendampingi metode lainnya untuk meningkatkan nilai diagnostik dari suatu kanker. Selain itu saliva juga dapat digunakan sebagai metode yang ekonomis untuk memonitor efisiensi kemoterapi dan pengobatan pasca operasi.¹

Saat ini telah ditemukan beberapa petanda tumor (*tumor marker*) pada saliva.³ Umumnya petanda tumor berupa protein, sehingga teknik pemeriksaan yang digunakan adalah teknik yang dapat menganalisis suatu protein tertentu seperti ELISA (*Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*) atau Spektrofotometri.^{1,4,5} Beberapa teknik lain untuk analisis protein juga dapat digunakan.⁵ Prinsipnya, teknik yang digunakan disesuaikan dengan petanda tumor (protein) yang akan dianalisis.

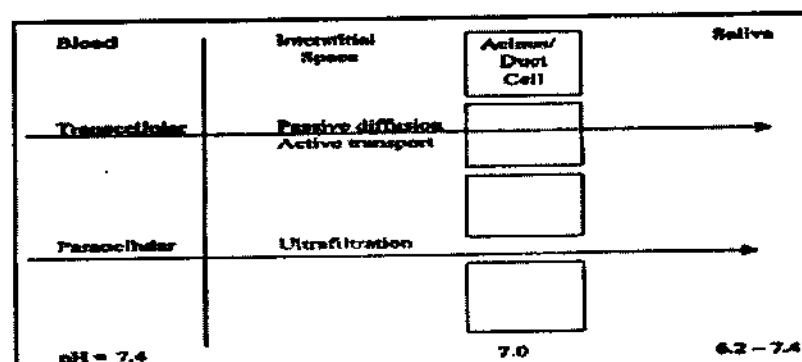
Beberapa Petanda Tumor Pada Saliva Untuk Deteksi Suatu Kanker Tertentu

Saliva merupakan cermin dari tubuh karena dari saliva dapat dianalisis beberapa kelainan yang terjadi pada tubuh.³ Saliva terdiri dari komponen-komponen anorganik dan bioorganik yang berdasarkan jumlah dan susunannya mempengaruhi fungsi saliva. Komponen bioorganik saliva yang utama adalah protein. Sebagian besar fungsi saliva bergantung pada sejumlah protein saliva.⁶ Protein saliva sebagian besar disekresi oleh sel-sel asinar yang merupakan sel utama pada proses sekresi

protein selain sel-sel lain pada kelenjar saliva.⁷ Saliva merupakan cairan oral yang disebut "*ultra-filtrate plasma*". Saat ini saliva telah terbukti sebagai media diagostik untuk mendeteksi berbagai molekul yang terdapat dalam plasma dan pada tingkat yang ekivalen dengan yang terdapat dalam darah (gambar). Karena itu, saliva sebagai media diagnostik dapat memberikan informasi yang serupa tentang status seseorang seperti yang didapat dari test darah, tanpa mengambil spesimennya secara invasif.²

Beberapa petanda tumor telah dapat diidentifikasi pada saliva. *c-erbB-2* atau dikenal juga sebagai *Her-2/neu*, merupakan prognosis petanda kanker payudara yang diuji pada biopsi jaringan dari wanita yang didiagnosa menderita tumor ganas. Protein *c-erbB-2* memperlihatkan overekspresi pada 20-30% tumor payudara ganas dan digunakan untuk evaluasi lanjutan setelah operasi sebagai indikator penyembuhan pasien. Selain *c-erbB-2*, CA 15-3 sering digunakan sebagai petanda tumor untuk evaluasi pasca operasi dan sebagai indikator penyembuhan pasien kanker payudara.¹

Pada beberapa penelitian diketahui bahwa p53 adalah senjata anti-tumor yang penting. Hal ini berdasarkan fakta bahwa 50% dari semua kanker manusia mengandung sel-sel dengan mutasi titik atau hilangnya kedua alel dari gen p53.⁸ p53 merupakan gen penghambat tumor yang umum pada beberapa kanker juga diidentifikasi pada saliva.



Gambar 1. Transportasi molekul dari darah ke saliva. Transportasi molekul dari darah ke saliva dapat melalui rute transeluler (difusi pasif & transportasi aktif) & rute paraseluler (ultrafiltrasi). Dari sel-sel kelenjar saliva, komposisi saliva disekresi sesuai transportasi molekul dari darah ke kelenjar saliva³.

Pada karsinoma sel skuamosa oral menyebabkan akumulasi antibodi anti-p53 pada saliva. Tidak aktifnya p53 pada beberapa kanker juga menyebabkan akumulasi pada saliva.³

Tuxen et al (2001) melakukan penelitian untuk memonitor kanker ovarian dengan petanda tumor CA 125. Sampai saat ini petanda tumor CA 125 pada serum digunakan untuk mendeteksi dan memonitor pasien kanker ovarian. CA 125 memberikan prediksi yang jelas selama kemoterapi atau pengobatan pasca operasi. Hasil penelitian mengindikasikan CA 125 dapat digunakan untuk memonitor pasien dengan berbagai aktivitas dari kanker ovarian.⁹ Lopatin DE pada penelitiannya mengenai saliva sebagai cairan diagnostik menyatakan bahwa CA 125 sebagai petanda tumor pada kanker ovarian berhubungan dengan level saliva yang meningkat.³

Beberapa Teknik Analisis Protein Yang Memungkinkan Untuk Deteksi Kanker Melalui Saliva

Saat ini terdapat berbagai teknik yang dapat digunakan untuk menganalisis suatu protein.⁵ Saliva sebagai media deteksi kanker dapat dilakukan dengan mengumpulkan seluruh saliva melalui stimulasi atau *stimulated whole saliva collection (SWS)*. Metode SWS sering dipilih pada penelitian epidemiologi yang berhubungan dengan petanda biologis (*biomarkers*) karena saliva yang dikumpulkan jumlahnya dapat terpenuhi, mudah saat pengambilannya, dan reproduksibilitas yang tinggi dari saliva. SWS tidak tergantung pada ritme sirkadian, sehingga pengambilan SWS tidak terpengaruh oleh waktu pengumpulannya. Selain itu, umumnya konsentrasi petanda tumor pada saliva seperti *c-erbB-2*, tidak terpengaruh oleh laju aliran saliva sehingga memudahkan waktu pengambilan. Hal ini membuat metode ini cocok untuk mengumpulkan saliva pada periode pukul 08.00-17.00.¹

Saliva merupakan bahan biologis yang terdiri dari berbagai macam protein dan komponen lainnya.⁶ Hal itu menyebabkan saliva perlu diisolasi dan

dipurifikasi (pemurnian). Tujuan isolasi adalah menyingkirkan senyawa bukan protein dari suatu bahan biologis dengan cara diolah misalnya dengan menambahkan pelarut lemak yang tidak merusak protein. Purifikasi bertujuan untuk memisahkan protein yang akan dianalisis dengan berbagai protein saliva. Purifikasi lebih sulit dilakukan karena sifat kimia yang mirip dari berbagai protein. Umumnya purifikasi dilakukan melalui perbedaan fisik atau biologis dari berbagai protein. Pada suatu bahan biologis, umumnya mengandung molekul dengan ukuran yang beragam dan berbagai sifat fisikokimia lainnya sehingga senyawa bukan protein lambat laun akan tersingkir selama proses isolasi dan purifikasi.⁵

Petanda tumor pada saliva dapat dideteksi melalui beberapa teknik analisis protein. Pada beberapa kasus, seringkali berbagai protein sulit dibedakan satu sama lain karena mempunyai berat molekul atau muatan listrik yang mirip, sehingga hanya bisa dideteksi berdasarkan sifat biologisnya. Salah satu sifat biologis yang paling umum dan paling mudah dimanfaatkan adalah sifat imunologis dari suatu protein sebagai suatu antigen. Sementara itu antibodi spesifik dapat dibuat terhadap senyawa apapun termasuk protein, kemudian dapat digunakan untuk melacak keberadaan dan mengukur konsentrasi suatu senyawa dalam suatu bahan biologis yang rumit termasuk protein pada saliva.⁵

ELISA adalah suatu teknik pengukuran kadar suatu materi protein (antigen, antibodi, petanda tumor dll) dalam suatu larutan bahan uji dengan memanfaatkan reaksi spesifik antara protein/antigen dengan antibodinya. Sedangkan antibodinya dapat diproduksi (disintesis) dengan cara induksi antigen pada binatang coba baik secara monoklonal maupun poliklonal. Sehingga dengan teknik ini dapat dirakit dan digunakan untuk mengukur berbagai protein yang diharapkan. Prinsip pada teknik ini yaitu pengikatan suatu protein yang akan dideteksi atau diukur kadarnya pada suatu permukaan padat (*solid phase*) yang diam atau *immobile* (dinding sumur mikrolat). Kemudian protein tersebut dapat diikat

dengan antibodi spesifiknya yaitu antibodi yang sintesisnya dibangkitkan oleh protein/antigen tersebut. Kompleks antigen-antibodi ini selanjutnya diikat oleh antibodi kedua yang berlabel enzim, yang merupakan antibodi anti antibodi spesifik. Setelah sisa antibodi kedua dibuang atau dicuci maka jumlah enzim yang ekuivalen dengan jumlah antibodi kedua dapat dideteksi dan diukur secara kuantitatif. Sehingga jumlah enzim dapat diketahui dan jumlah ini ekuivalen dengan jumlah antigen/protein yang diukur.¹⁰

Bigler et. al (2002) melakukan penelitian awal yang menggunakan saliva sebagai media pendeteksi kanker payudara dengan menggunakan teknik ELISA. Uji ELISA untuk *c-erbB-2* dan CA15-3 dilakukan pada saliva dan serum yang dikumpulkan dari semua pasien sebelum terapi tambahan atau operasi dan dilanjutkan selama terapi. Hasil penelitian mengindikasikan bahwa ekspresi protein *c-erbB-2* pada saliva dapat berguna sebagai media diagnostik pada pasien kanker payudara. Selain itu, saliva dapat digunakan untuk memonitor respon pasien terhadap kemoterapi dan atau penyembuhan pasca operasi.¹

Beberapa teknik analisis protein lainnya, berdasarkan kegunaannya, diduga dapat dipakai untuk mendeteksi kanker melalui protein saliva. Pemisahan berdasarkan berat molekul dapat dilakukan dengan menggunakan gravitasi seperti pada kromatografi kolom gel. Selain itu untuk waktu yang lebih cepat dapat digunakan teknik dan peralatan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) atau *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*. Berbagai protein dalam suatu bahan uji biologis dapat diperlihatkan secara visual dengan teknik analisis elektroforesis. Prinsip teknik ini yaitu memisahkan protein berdasarkan perbedaan kemampuan berbagai protein untuk berjalan dalam medan listrik. Pada tujuan diagnosis, elektroforesis dapat memberikan berbagai informasi berdasarkan jumlah ragam protein yang diperlihatkannya atau berdasarkan jumlah protein tertentu yang ada pada suatu bahan uji biologis.⁵

Teknik pengukuran konsentrasi protein dari suatu bahan uji biologis dapat menggunakan teknik spektrofotometri. Pada tujuan diagnostik, spektrofotometri dapat memberikan informasi melalui pengukuran konsentrasi protein total suatu bahan uji biologis tanpa perlu memisahkan seluruh protein menjadi berbagai protein penyusunnya. Prinsip spektrofotometri berdasarkan kolorimeter, yaitu bila suatu berkas sinar putih melalui suatu larutan berwarna maka akan terjadi penyerapan cahaya sesuai panjang gelombang (λ) tertentu dari spektrum warna. Banyaknya cahaya yang diserap sebanding dengan intensitas warna larutan. Jika larutan tidak berwarna seperti saliva, maka dapat dibuat berwarna dengan mereaksikannya dengan pereaksi tertentu. Pada teknik ini sumber cahaya diuraikan menggunakan prisma sehingga diperoleh cahaya monokromatis yang diserap oleh zat yang akan diperiksa. Penetapan kadar suatu zat dengan teknik ini terlebih dahulu harus ditentukan panjang gelombang (λ) dengan serapan maksimum dari larutan tersebut. Setelah diketahui λ dengan serapan maksimum baru dilakukan pengukuran serapan larutan standar yang diketahui kadarnya. Penetapan kadar suatu larutan uji dapat dilakukan dengan membandingkan serapannya dengan serapan larutan standar.⁴

Kesimpulan

Saliva dapat digunakan sebagai media diagnostik yang relatif lebih mudah, aman, dan nyaman serta tidak memerlukan tenaga ahli saat pengambilannya. Status kesehatan seseorang dapat diperoleh dari saliva seperti informasi yang didapat dari test darah. Penemuan beberapa petanda tumor pada saliva mengindikasikan saliva dapat digunakan sebagai media untuk mendeteksi kanker dengan teknik analisis protein yang sesuai. Walaupun masih perlu dilakukan penelitian yang lebih jauh tentang penggunaan saliva untuk deteksi kanker, jelas ada kebutuhan akan test diagnostik yang mudah, aman dan

ekonomis untuk mendeteksi dan memonitor pasien penderita kanker.

Daftar Pustaka

1. Bigler L, Streckfus C, Copeland L et al. The potential use of saliva to detect recurrence of disease in women with breast carcinoma. *J Oral Pathol Med* 2002. 31: 421-31.
2. LifePoint Inc. Saliva based testing systems to the next generation. <http://www.LifePointinc.com/standardwelcome.htm>.
3. Lopatin D. Saliva as a diagnostic fluid. www.umich.edu/~bmsteach/lopatin/salivarygland/lectures/download/saliva_as_a_diagnostic_fluid.
4. Jusman S. Penetapan kadar protein dengan spektrofotometer. *Panduan Pelatihan: Peran dan Pemanfaatan Teknologi Protein Dalam Perkembangan Ilmu Kedokteran*. Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Indonesia Februari-Maret 2000: 33-35.
5. Sadikin M. Analisis protein. *Panduan Pelatihan: Peran dan Pemanfaatan Teknologi Protein Dalam Perkembangan Ilmu Kedokteran*. Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Indonesia Februari-Maret 2000: 1-3.
6. Amerongen A. *Ludah dan Kelenjar Ludah: Arti bagi kesehatan gigi*. Gajah Mada University Press. 1991: 18-22.
7. Proctor G. Secretory protein synthesis and constitutive (vesicular) secretion by salivary glands. In: Garrett J et al. *Glandular Mechanism of Salivary Secretion*. London: KARGER. 1998: 73-76.
8. Moll U, Schramm L. p53-an acrobat in tumorigenesis. *Critical Review in Oral Biology dan Medicine* 1998; 9(1): 23-37.
9. Tuxen MK, Soletormos G, Dombernowsky P. Serum tumour marker CA 125 in monitoring of ovarian cancer during first-line chemotherapy. *British journal of Cancer* 2001. 84(10): 1301-07.
10. Prijanti A, Sadikin M. Prinsip dasar ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). *Panduan Pelatihan: Peran dan Pemanfaatan Teknologi Protein Dalam Perkembangan Ilmu Kedokteran*. Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Indonesia Februari-Maret 2000: 52-57.